

TITLE: Th2 cytokine inhibitors containing flavonoid compounds

INVENTORS: Kotani, Mayumi; Fujita, Akihito; Matsumoto, Motonobu

LANGUAGE: Japanese

PATENT NO.	KIND	DATE	APPLICATION NO.	DATE
JP 2001114686	A2	20010424	JP 1999-293922	19991015 <--
PRIORITY APPLN. INFO.:			JP 1999-293922	19991015

#### ABSTRACT

The invention provides a Th2 cytokine inhibitor, esp. interleukin -4 (IL-4), IL-5, and/or IL-13 generation inhibitor, containing a flavonoid compd., *e.g.* fisetin, quercetin, kaempferol, apigenin, and luteolin, suitable for use for prevention and treatment of allergic disease. The effects of fisetin on IL-4, IL-5, and IL-13 mRNA expressions in cultured KU812 cells were examined. Also, a chewable tablet contg. fisetin 5, xylitol 300, aspartame 4, magnesiums stearate 10, and fragrance 1 mg was prepared.

First Hit

L1: Entry 1 of 2

File: JPAB

Apr 24, 2001

PUB-NO: JP02001114686A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 2001114686 A

TITLE: Th2 CYTOKININ EXPRESSION SUPPRESSANT

PUBN-DATE: April 24, 2001

## INVENTOR- INFORMATION:

NAME	COUNTRY
KOTANI, MAYUMI	
FUJITA, AKIHITO	
MATSUMOTO, MOTONOBU	

## ASSIGNEE- INFORMATION:

NAME	COUNTRY
SUNSTAR INC	

APPL-NO: JP11293922

APPL-DATE: October 15, 1999

INT-CL (IPC): A61 K 31/352; A61 K 31/353; A61 K 31/7048; A61 P 37/06; A61 P 37/08;  
A61 P 43/00; A61 K 35/78

## ABSTRACT:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a medicinal composition having excellent Th2 cytokinin expression-suppressing effects.

SOLUTION: This Th2 cytokinin expression suppressant contains a flavonoid compound expressed by general formula (1) [R1, R2, R3, R4, R5, R6 and R7 are each the same or different and express H or OH; R is H, OH or a glycosyl;... is a single bond or a double bond.] as an effective ingredient.

COPYRIGHT: (C)2001,JPO



allergic diseases, rough skin and itching.

ABSTRACTED-PUB-NO: JP2001114686A  
EQUIVALENT-ABSTRACTS:

CHOSEN-DRAWING: Dwg. 0/0

DERWENT-CLASS: B02  
CPI-CODES: B06-A01; B14-G02A; B14-L07; B14-N17C;

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number : 2001-114686

(43) Date of publication of application : 24.04.2001

(51) Int.Cl.

A61K 31/352  
A61K 31/353  
A61K 31/7048  
A61P 37/06  
A61P 37/08  
A61P 43/00  
// A61K 35/78

(21) Application number : 11-293922

(71) Applicant : SUNSTAR INC

(22) Date of filing : 15.10.1999

(72) Inventor : KOTANI MAYUMI

FUJITA AKIHITO

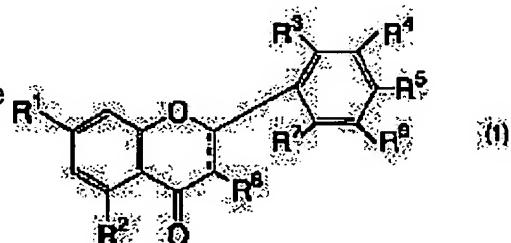
MATSUMOTO MOTONOBU

## (54) Th2 CYTOKININ EXPRESSION SUPPRESSANT

(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a medicinal composition having excellent Th2 cytokinin expression-suppressing effects.

SOLUTION: This Th2 cytokinin expression suppressant contains a flavonoid compound expressed by general formula (1) [R1, R2, R3, R4, R5, R6 and R7 are each the same or different and express H or OH; R is H, OH or a glycosyl; ... is a single bond or a double bond.] as an effective ingredient.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of

[rejection]

[Kind of final disposal of application other than  
the examiner's decision of rejection or  
application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

## \* NOTICES \*

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. \*\*\*\* shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

---

## DETAILED DESCRIPTION

---

### [Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention] This invention relates to Th2 cytokine manifestation inhibitor which makes a flavonoid compound an active principle.

[0002]

[Description of the Prior Art] Th2 cytokine in which interleukin -4, interleukin -5, and interleukin 13 grade are contained has various functions, and can expect various operations by controlling the manifestation of Th2 cytokine (for example, since interleukin 4 has the operation which promotes production of IgE, prevention of the allergy symptom in which IgE participates is expectable by controlling the manifestation of interleukin 4). Moreover, it is possible to control production of Th2 cytokine with manifestation control of mRNA of Th2 cytokine.

[0003]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] This invention aims at offering the physic constituent which has outstanding Th2 cytokine manifestation depressor effect.

[0004]

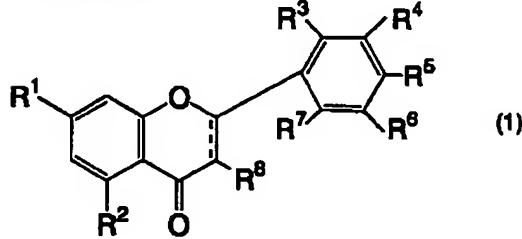
[Means for Solving the Problem] The flavonoid compound expressed with a general formula (1) sets this invention person to screening of Th2 cytokine manifestation. On Th2 cytokine and a concrete target, interleukin -4 (IL-4), The depressor effect which was excellent in the manifestation of mRNA of interleukin -5 (IL-5) and interleukin -13 (IL-13) is shown. A header and this invention were completed for having the operation which controls the manifestation of mRNA of these interleukin and checks production of these interleukin.

[0005] That is, this invention offers invention shown in each following term.

[0006] Term 1 General formula (1)

[0007]

[Formula 5]



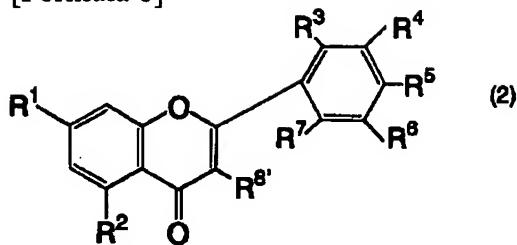
[0008] the inside of [type, and R1, R2, R3, R4, R5, R6 and R7 are the same -- or it differs and a hydrogen atom or a hydroxyl group is shown. R8 shows a hydrogen atom, a hydroxyl group, or a glycosyl group. --- shows single bond or a double bond.] Th2 cytokine manifestation inhibitor which comes out and makes an active principle the flavonoid compound expressed.

[0009] Term 2 The flavonoid compound expressed with a general formula (1) is the following general

formula (2).

[0010]

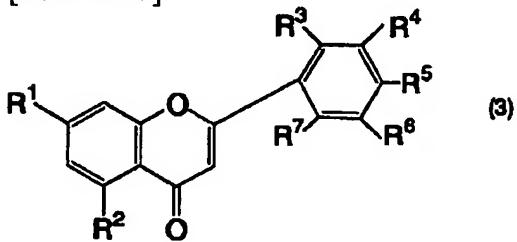
[Formula 6]



[0011] the inside of [type, and R1, R2, R3, R4, R5, R6 and R7 are the same -- or it differs and a hydrogen atom or a hydroxyl group is shown. R8' shows a hydroxyl group or a glycosyl group.] The following general formula (3)

[0012]

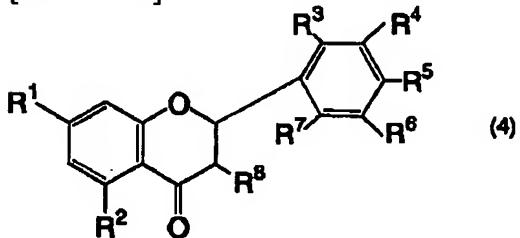
[Formula 7]



[0013] [-- the inside of a formula, and R1, R2, R3, R4, R5, R6 and R7 are the same -- or it differs and a hydrogen atom or a hydroxyl group is shown.] Or the following general formula (4)

[0014]

[Formula 8]



[0015] the inside of [type, and R1, R2, R3, R4, R5, R6 and R7 are the same -- or it differs and a hydrogen atom or a hydroxyl group is shown. R8 shows a hydrogen atom, a hydroxyl group, or a glycosyl group.] A manifestation inhibitor given in the term 1 which is the flavonoid compound come out of and expressed.

[0016] Term 3 Manifestation inhibitor given in the term 1 whose flavonoid compound expressed with a general formula (1) is FISECHIN, quercetine, kaempferol, apigenin, or luteolin.

[0017] Term 4 Manifestation inhibitor given in either of the terms 1-3 which are interleukin-4 manifestation inhibitors.

[0018] Term 5 Manifestation inhibitor given in either of the terms 1-3 which are interleukin-5 manifestation inhibitors.

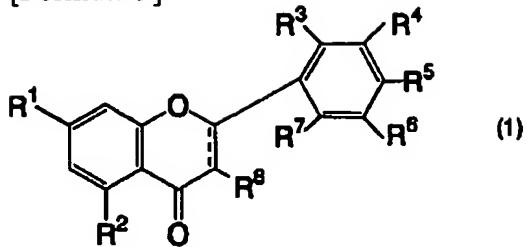
[0019] Term 6 Manifestation inhibitor given in either of the terms 1-3 which are interleukin-13 manifestation inhibitors.

[0020]

[Embodiment of the Invention] Th2 cytokine manifestation inhibitor of this invention is a general formula (1).

[0021]

[Formula 9]



[0022] -- the inside of a formula, and R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7 and R8 -- and -- --- is the same as the above.] It comes out and the flavonoid compound expressed is contained as an active principle.

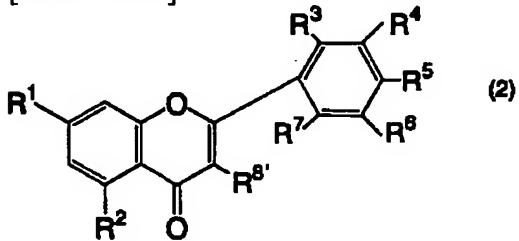
[0023] A glycosyl group expresses sugar residue, such as disaccharides, such as monosaccharides, such as a glucose, a galactose, a fructose, and rhamnose, a rutinose, vicianose, a lactose, a maltose, and sucrose. Therefore, a glycosyl group shows for example, a glucosyl radical, a galactosyl radical, a FURUKU tosyl group, a rhamnosyl radical, etc. The combination of the arbitration of these radicals joins together by 1->2 association, 1->3 association, 1->4 association, or 1->6 association, and the radical used as a disaccharide is also contained in a glycosyl group.

[0024] As a compound expressed with a general formula (1), the compound expressed with the following general formula is illustrated preferably.

[0025] General formula (2)

[0026]

[Formula 10]



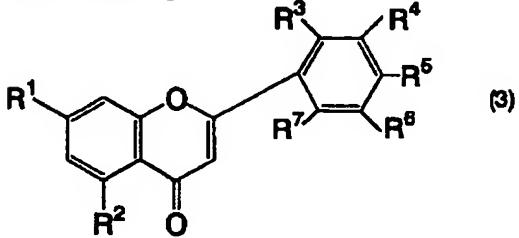
[0027] R1, R2, R3, R4, R5, R6, and R7 are the same as the above among [type. R8' shows a hydroxyl group or a glycosyl group.] the flavonoid compound (a general formula (1) -- setting -- R8 -- a hydroxyl group or a glycosyl group -- it is --- is equivalent to the compound which is a double bond) come out of and expressed.

[0028] The flavonoid compound expressed with a general formula (2) is the flavonol compound which has hydroxyl in the 3rd place of a flavone, or its glycoside, and, specifically, GARANGIN, morin, myricetin, quercetine, FISECHIN, kaempferol, astragalin, rutin, Isoquercitrin, etc. are mentioned.

[0029] General formula (3)

[0030]

[Formula 11]



[0031] -- R1, R2, R3, R4, R5, R6, and R7 are the same as the above among a formula.] The flavonoid compound come out of and expressed (in a general formula (1), R8 is a hydrogen atom and it is equivalent to the compound whose --- is a double bond.).

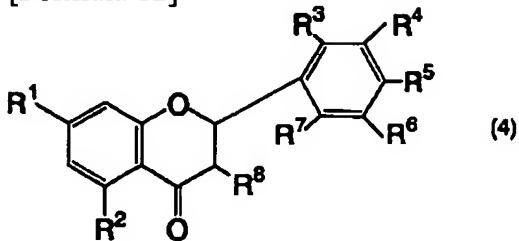
[0032] Specifically as a compound expressed with a general formula (3), chrysanthemum, apigenin, luteolin, etc.

are mentioned.

[0033] General formula (4)

[0034]

[Formula 12]



[0035] [-- R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, and R8 are the same as the above among a formula.] the flavonoid compound (a general formula (1) -- setting --- is equivalent to the compound which is single bond) come out of and expressed.

[0036] Specifically as a compound expressed with a general formula (4), Fustin, an ERIODIKU thiol, etc. are mentioned.

[0037] Also in these compounds mentioned concretely, as an active principle of this invention, FISECHIN, apigenin, luteolin, kaempferol, myricetin, quercetin, and rutin are desirable, FISECHIN, kaempferol, quercetin, apigenin, and luteolin are more desirable, and FISECHIN, apigenin, and luteolin are the most desirable.

[0038] In addition, the compound with which the cinnamoyl radical and the cafe roil radical were permuted by the flavonoid frame can also be expected to be able to acquire the same effectiveness as the flavonoid compound expressed with a general formula (1).

[0039] The active principle of this invention expressed with a general formula (1) may be compounded, and may be the thing of the vegetable origin.

[0040] As vegetation containing many this invention active principles, the leaf of a persimmon, sagebrush, the leaf of a Japan cedar, a mint, a luffa, the *Betula alba*, a grape seed, *Gynostemma pentaphyllum*, *Gymnema*, a guava, a Chinese matrimony vine, a low bamboo, a jasmine, a field horsetail, *Houttuynia*, *Coix lacryma-joli*, the leaf of a loquat, mulukhiya, an udo, a crocus, a mulberry, *Apocynumveneyum* L., *carthami flos*, *TOCHUU*, a lily of the valley, a spiral spring, etc. are mentioned. Also in these, the leaf of a persimmon, sagebrush, the leaf of a Japan cedar, a mint, a luffa, the *Betula alba*, and a grape seed are desirable, and especially the leaf of a persimmon is desirable.

[0041] In this invention, you may use as it is, and it may refine and the extract of these vegetation obtained according to the conventional method may be used.

[0042] This is used for Th2 cytokine manifestation inhibitor of this invention by making the flavonoid compound of a general formula (1) into an indispensable component with the suitable support permitted in galenical pharmacy, and it is used as a gestalt of common physic pharmaceutical preparation.

[0043] As administration unit form voice of the above-mentioned physic pharmaceutical preparation, various kinds of gestalten can choose according to the therapy purpose, and the pharmaceutical preparation; cataplasms of the shape of a cream, such as fine-particles pharmaceutical preparation; liquids and solutions, such as solid-preparations; powders for internal use, such as a tablet, a pill, a granule, a capsule, and trochiscus, external use powder, and powder, suspension, an emulsion, injections (liquids and solutions, suspension, etc.), syrups, lotions, aerosols, and ophthalmic solutions, such as a liquid-preparations; ointment, etc. are mentioned as the typical thing.

[0044] A diluent or excipients, such as the binder and disintegrator which are usually used according to the gestalt of pharmaceutical preparation as the above-mentioned support which is used for Th2 cytokine manifestation inhibitor of this invention, and which is permitted in galenical pharmacy, a surfactant, absorption enhancers, a moisturizer, an adsorbent, lubricant, a bulking agent, an extending agent, and a \*\*\*\* agent, can be illustrated, and these are used according to the administration unit form voice of pharmaceutical preparation, choosing them suitably.

[0045] Furthermore, antiseptics, a sweetening agent, a coloring agent, an anti-oxidant, a preservative, perfume, a flavor agent, etc. and other drugs can be blended with this invention Th2 cytokine manifestation inhibitor if needed, and it can also prepare as physic pharmaceutical preparation to it.

[0046] The above-mentioned physic pharmaceutical preparation can be prepared according to the conventional method in the gestalt concerned.

[0047] Especially the medication method of the above-mentioned physic pharmaceutical preparation does not have a limit, and a medicine is prescribed for the patient according to the formulation, for example, a tablet, a pill, a granule, a capsule, the trochiscus, powders for internal use, liquids and solutions, suspension, an emulsion, syrups, etc. are administered orally, and dermal administration of external use powder, powder, lotions, an ointment, the cataplasms, etc. is carried out. injections -- the inside of a vein -- or hypodermically or intraperitoneal are medicated in intramuscular and a hide. Aerosols can be prescribed for the patient as collunarium.

[0048] Although suitably chosen about the dose of the above-mentioned physic pharmaceutical preparation according to the gestalt of the pharmaceutical preparation, a patient's age, the conditions of sex and others, extent of a disease, etc., it is good for the amount of an active principle to set preferably about 0.025-3mg per weight of 1kg to about 0.05-1.5mg on the 1st, and it can usually prescribe a medicine for the patient in 1 time or 2 - 4 steps on the 1st.

[0049] The flavonoid compound expressed with a general formula (1) Since it has the effectiveness which controls the manifestation of mRNA of Th2 cytokine (specifically IL- 4, IL- 5 and IL- 13), By controlling production (generation) of Th2 cytokine (specifically IL- 4, IL- 5 and IL- 13) (inhibition), the manifestation of Th2 cytokine (specifically IL- 4, IL- 5 and IL- 13) can be controlled. Therefore, the physic pharmaceutical preparation which makes an active principle the flavonoid compound expressed with a general formula (1) can be used for Th2 cytokine manifestation inhibitor and a concrete target as IL-4, IL-5, and an IL-13 manifestation inhibitor.

[0050] Since IL-4, IL-5, and IL-13 participate in IgE production or induction of the chronic inflammation, Th2 cytokine manifestation inhibitor of this invention can expect the various symptoms that these are related, an immediate-type-allergy reaction [ in / specifically / an allergic disease ], and the operation as a controller (modifier) of chronic allergic inflammation (for example, allergic rhinitis, pollinosis, atopic dermatitis, etc.).

[0051] The extract of the vegetation illustrated above as vegetation containing the flavonoid compound expressed with a general formula (1) () If the constituent containing this extract is taken in for a long period of time, by or the production depressant action of IgE and the depressant action of inflammation based on manifestation control of Th2 cytokine (specifically IL- 4, IL- 5 and IL- 13) Since effectiveness, such as production of IgE, prevention of the various symptoms relevant to inflammation or an improvement operation, for example, prevention of allergy (allergic rhinitis, pollinosis, atopic dermatitis, etc.), surface deterioration prevention or an improvement, and an improvement of the itching, is expectable, taking in for such the purpose is also possible.

[0052]

[Example] Although the example of an experiment and the example of a formula explain this invention, the range of this invention is not these things limited to seeing.

[0053] Example [ of an Experiment ] 1: IL-4 by RT-PCR, IL-5, and IL-13 The manifestation conventional method of mRNA is followed and it is IL-4, IL-5, and IL-13. The amount of manifestations of mRNA was measured.

[0054] The Homo sapiens basophilic leucocyte established cell line (KU812) was cultivated under 37 degrees C and 5%CO2 in RPMI1640 culture medium (Gibco) which contains fetal calf serum (56 degrees C, 30-minute processing) 10%. Each flavonoid compound of concentration and 1 which show KU812 cell (5x105 cells/ml) in Table 1 and 2 It stimulated by muMA23187 ionophore for 3 hours. The total RNA was extracted by RNAzol (Biotex, USA) after washing. 800ng was mixed by RT mixture (Rerkin ElmerCetus, USA) among the extracted total RNA, and it incubated for 60 minutes at 37 degrees C for 5 minutes by 99 degrees C. After each RT product was acquired, PCR magnification was performed using the IL-4, IL-5, and IL-13 specific primer and beta actin specific primer. The ethidium

bromide dyed the product after migration by agarose gel 2%, it measured with the densitometer after photography, and -, \*\*, +, ++, or +++ estimated the amount of manifestations. A result is shown in the following Table 1 and 2.

[0055]

[Table 1]

フラボノイド化合物		IL-4mRNA 発現量	$\beta$ アクチン
コントロール	(0 $\mu$ M)	+++	+++
フィセチン	(30 $\mu$ M)	-	+++
ケンフェロール	(30 $\mu$ M)	+	+++
ミリセチン	(30 $\mu$ M)	++	+++
ケルセチン	(30 $\mu$ M)	+	+++
ルチン	(30 $\mu$ M)	++	+++
アピゲニン	(30 $\mu$ M)	+	+++
ルテオリン	(30 $\mu$ M)	-	+++

[0056]

[Table 2]

フラボノイド 化合物	IL-4 mRNA 発現量	IL-5 mRNA 発現量	IL-13 mRNA 発現量	$\beta$ アクチン
コントロール (0 $\mu$ M)	+++	+++	+	+++
フィセチン (3 $\mu$ M)	++	++	±	+++
フィセチン (30 $\mu$ M)	-	±	-	+++

[0057] The amount of manifestations in Table 1 and 2 is shown by the following criteria.

+++; -- very many ++; -- many +; -- little \*\*; -- the manifestation depressor effect of mRNA of IL-4 of a basophilic leucocyte cell was accepted by medicating a basophilic leucocyte cell with very few flavonoid compounds of each shown in the --;less table 1. Especially, remarkable depressor effect was accepted in FISECHIN, kaempferol, querctine, apigenin, and luteolin. Manifestation control of IL-4, IL-5, and IL-13 was accepted in FISECHIN.

[0058] Below, it is formula \*\*\*\*\* of this invention interleukin manifestation inhibitor. These can be manufactured according to the conventional method in the gestalt.

[0059]

The example 1 of a formula: Chewable tablet (mg)

FISECHIN 5 xylitol 300 Aspartame 4 magnesium stearates Ten perfume The example 2 of 1 formula: Ointment (g)

Apigenin 0.5 polyethylene glycols 400 49.5 polyethylene glycols 4000 49.8 acrinol powder 0.2 [0060]

[Effect of the Invention] The general formula (1) and the flavonoid compound specifically expressed with a general formula (2), a general formula (3), or a general formula (4) have the manifestation depressor effect of mRNA of IL-4 of a basophilic leucocyte cell or a mast cell, IL-5, and IL-13, and has the manifestation depressant action of IL-4, IL-5, and IL-13. therefore, the physic constituent containing the flavonoid compound of a general formula (1) -- Th -- it can specifically be used as IL-4, IL-5, and an IL-13 manifestation inhibitor 2 cytokine. Th2 cytokine of IL-4, IL-5, and IL-13 grade participates in IgE

production or induction of the chronic inflammation. Therefore, Th2 cytokine manifestation inhibitor of this invention can expect the immediate-type-allergy reaction in an allergic disease, and the operation as a controller (modifier) of chronic allergic inflammation (for example, allergic rhinitis, pollinosis, atopic dermatitis, etc.). Or the plant extract (or constituent containing this extract) containing the flavonoid compound expressed with a general formula (1) can be taken in over a long period of time for the purpose of prevention of the allergy (for example, allergic rhinitis, pollinosis, atopic dermatitis) by the IgE production control based on manifestation control of IL-4, IL-5, and IL-13 etc., prevention of surface deterioration or an improvement, the improvement of the itching, etc.

---

[Translation done.]

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2001-114686

(P2001-114686A)

(43)公開日 平成13年4月24日(2001.4.24)

(51)Int.Cl.  
A 61 K 31/352  
31/353  
31/7048  
A 61 P 37/06  
37/08

識別記号

F I  
A 61 K 31/352  
31/353  
31/7048  
A 61 P 37/06  
37/08

テーマコード(参考)  
4 C 0 8 6  
4 C 0 8 8

審査請求 未請求 請求項の数 6 O.L (全 7 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願平11-293922

(22)出願日 平成11年10月15日(1999.10.15)

(71)出願人 000108324  
サンスター株式会社  
大阪府高槻市朝日町3番1号  
(72)発明者 小谷 麻由美  
兵庫県神戸市長田区浜添通1丁目4-13  
(72)発明者 藤田 晃人  
大阪府高槻市真上町6丁目18-19  
(72)発明者 松本 元伸  
大阪府高槻市上土室1丁目10-6-303  
(74)代理人 100065215  
弁理士 三枝 英二 (外8名)

最終頁に続く

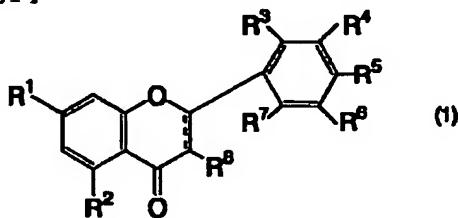
(54)【発明の名称】 Th 2サイトカイン発現抑制剤

(57)【要約】

【課題】 侵れたTh 2サイトカイン発現抑制効果を有する医薬組成物を提供する。

【解決手段】 一般式(1)

【化1】

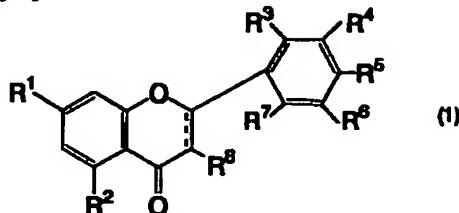


[式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>は、同一又は異なって、水素原子又は水酸基を示す。R<sup>8</sup>、水素原子、水酸基又はグリコシル基を示す。—は、単結合又は二重結合を示す。]で表されるフラボノイド化合物を有効成分とするTh 2サイトカイン発現抑制剤。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】 一般式(1)

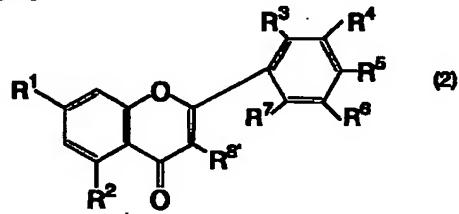
## 【化1】



【式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>は、同一又は異なって、水素原子又は水酸基を示す。R<sup>8</sup>は、水素原子、水酸基又はグリコシル基を示す。】で表されるフラボノイド化合物を有効成分とするTh2サイトカイン発現抑制剤。

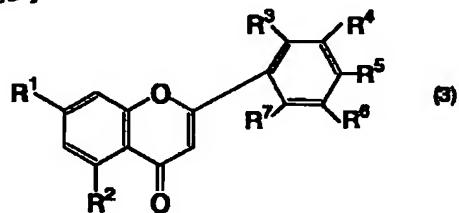
【請求項2】 一般式(1)で表されるフラボノイド化合物が、下記一般式(2)

## 【化2】



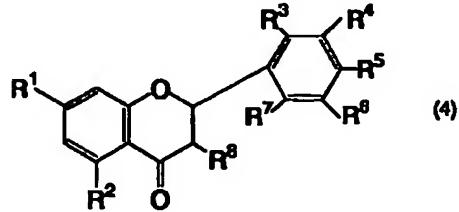
【式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>は、同一又は異なって、水素原子又は水酸基を示す。R<sup>8</sup>は、水酸基又はグリコシル基を示す。】、下記一般式(3)

## 【化3】



【式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>は、同一又は異なって、水素原子又は水酸基を示す。】又は下記一般式(4)

## 【化4】



【式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>は、同一又は異なって、水素原子又は水酸基を示す。R<sup>8</sup>は、

水素原子、水酸基又はグリコシル基を示す。】で表されるフラボノイド化合物である請求項1に記載の発現抑制剤。

【請求項3】 一般式(1)で表されるフラボノイド化合物が、フィセチン、ケルセチン、ケンフェロール、アピゲニン又はルテオリンである請求項1に記載の発現抑制剤。

【請求項4】 インターロイキン-4発現抑制剤である請求項1～3のいずれかに記載の発現抑制剤。

10 【請求項5】 インターロイキン-5発現抑制剤である請求項1～3のいずれかに記載の発現抑制剤。

【請求項6】 インターロイキン-13発現抑制剤である請求項1～3のいずれかに記載の発現抑制剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、フラボノイド化合物を有効成分とするTh2サイトカイン発現抑制剤に関する。

## 【0002】

20 【従来の技術】インターロイキン-4、インターロイキン-5、インターロイキン-13等が含まれるTh2サイトカインは種々の機能を有しており、Th2サイトカインの発現を抑制することにより様々な作用が期待できる(例えば、インターロイキン-4は1gEの産生を促進する作用を有しているので、インターロイキン-4の発現を抑制することにより1gEの関与するアレルギー症状の予防が期待できる)。また、Th2サイトカインのmRNAの発現抑制によって、Th2サイトカインの産生を抑制することが考えられる。

## 30 【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、優れたTh2サイトカイン発現抑制効果を有する医薬組成物を提供することを目的とする。

## 【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者は、一般式(1)で表されるフラボノイド化合物が、Th2サイトカイン発現のスクリーニングにおいて、Th2サイトカイン、具体的にはインターロイキン-4(IL-4)、インターロイキン-5(IL-5)及びインターロイキン-13(IL-13)のmRNAの発現の優れた抑制効果を示し、これらインターロイキンのmRNAの発現を抑制してこれらインターロイキンの産生を阻害する作用を有していることを見出し、本発明を完成した。

【0005】即ち、本発明は、下記の各項に示す発明を提供するものである。

【0006】項1 一般式(1)

【0007】

【化5】

びR<sup>7</sup>は、同一又は異なって、水素原子又は水酸基を示す。R<sup>8</sup>は、水素原子、水酸基又はグリコシル基を示す。]で表されるフラボノイド化合物である項1に記載の発現抑制剤。

【0016】項3 一般式(1)で表されるフラボノイド化合物が、フィセチン、ケルセチン、ケンフェロール、アピゲニン又はルテオリンである項1に記載の発現抑制剤。

10 【0017】項4 インターロイキン-4発現抑制剤である項1～3のいずれかに記載の発現抑制剤。

【0018】項5 インターロイキン-5発現抑制剤である項1～3のいずれかに記載の発現抑制剤。

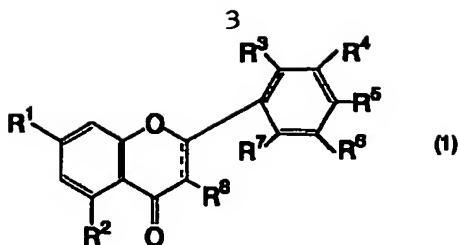
【0019】項6 インターロイキン-13発現抑制剤である項1～3のいずれかに記載の発現抑制剤。

【0020】

【発明の実施の形態】本発明のTh2サイトカイン発現抑制剤は、一般式(1)

【0021】

【化6】

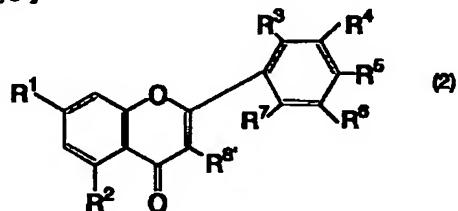


【0008】[式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>は、同一又は異なって、水素原子又は水酸基を示す。R<sup>8</sup>は、水素原子、水酸基又はグリコシル基を示す。]で表されるフラボノイド化合物を有効成分とするTh2サイトカイン発現抑制剤。

【0009】項2 一般式(1)で表されるフラボノイド化合物が、下記一般式(2)

【0010】

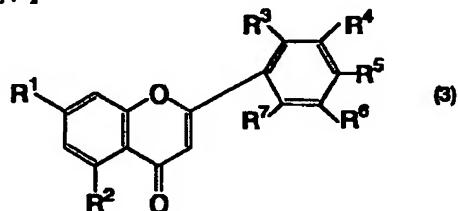
【化6】



【0011】[式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>は、同一又は異なって、水素原子又は水酸基を示す。R<sup>8</sup>は、水酸基又はグリコシル基を示す。]、下記一般式(3)

【0012】

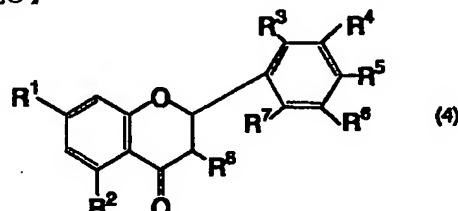
【化7】



【0013】[式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>は、同一又は異なって、水素原子又は水酸基を示す。]又は下記一般式(4)

【0014】

【化8】



【0015】[式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>及

20 びR<sup>7</sup>は、同一又は異なって、水素原子又は水酸基を示す。R<sup>8</sup>は、水素原子、水酸基又はグリコシル基を示す。]で表されるフラボノイド化合物である項1に記載の発現抑制剤。

【0022】[式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>及び — は前記に同じ。]で表されるフラボノイド化合物を有効成分として含有する。

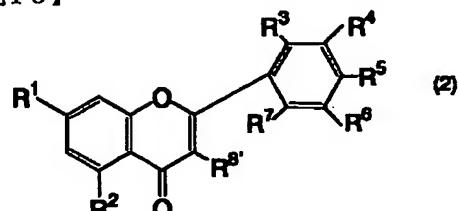
30 【0023】グリコシル基は、例えば、グルコース、ガラクトース、フルクトース、ラムノース等の单糖、ルチノース、ビシアノース、ラクトース、マルトース、シュクロース等の二糖などの糖残基を表すものである。従って、グリコシル基は、例えば、グルコシル基、ガラクトシル基、フルクトシル基、ラムノシル基等を示す。グリコシル基には、これら基の任意の組み合わせが、1→2結合、1→3結合、1→4結合又は1→6結合で結合し、二糖となった基も含まれる。

【0024】一般式(1)で表される化合物としては、下記の一般式で表される化合物が好ましく例示される。

40 【0025】一般式(2)

【0026】

【化10】



【0027】[式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>は前記に同じ。R<sup>8</sup>は、水酸基又はグリコシル基を示す。]で表されるフラボノイド化合物(一般式

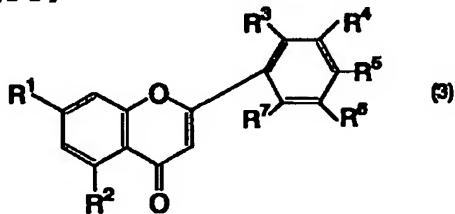
(1)において、R<sup>8</sup>が、水酸基又はグリコシル基であって、—が二重結合である化合物に相当する。】

【0028】一般式(2)で表されるフラボノイド化合物は、フラボンの3位にヒドロキシル基を有しているフラボノール化合物又はその配糖体であり、具体的には、ガランギン、モリン、ミリセチン、ケルセチン、フィセチン、ケンフェロール、アストラガリン、ルチン、イソケルシトリン等が挙げられる。

【0029】一般式(3)

【0030】

【化11】



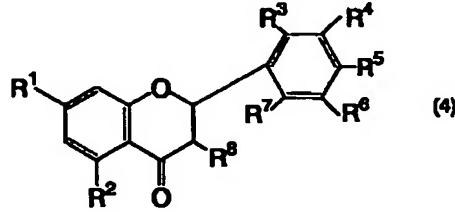
【0031】[式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>は前記に同じ。]で表されるフラボノイド化合物(一般式(1)において、R<sup>8</sup>が水素原子であって、—が二重結合である化合物に相当する。)。

【0032】一般式(3)で表される化合物としては、具体的には、クリシン、アピゲニン、ルテオリン等が挙げられる。

【0033】一般式(4)

【0034】

【化12】



【0035】[式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>及びR<sup>8</sup>は前記に同じ。]で表されるフラボノイド化合物(一般式(1)において、—が单結合である化合物に相当する。)。

【0036】一般式(4)で表される化合物としては、具体的には、フスチン、エリオディクチオール等が挙げられる。

【0037】これら具体的に挙げられた化合物の中でも、本発明の有効成分としては、フィセチン、アピゲニン、ルテオリン、ケンフェロール、ミリセチン、ケルセチン及びルチンが好ましく、フィセチン、ケンフェロール、ケルセチン、アピゲニン及びルテオリンがより好ま

しく、フィセチン、アピゲニン及びルテオリンが最も好ましい。

【0038】なお、フラボノイド骨格に、シンナモイル基やカフェロイル基が置換された化合物も、一般式(1)で表されるフラボノイド化合物と同様の効果を得ることができると期待できる。

【0039】一般式(1)で表される本発明の有効成分は、合成されたものであってもよく、植物由来のものであってもよい。

10 10 【0040】本発明有効成分を多く含む植物としては、柿の葉、ヨモギ、杉の葉、ミント、ヘチマ、シラカバ、ブドウ種子、アマチャヅル、ギムネマ、グアバ、クコ、クマザサ、ジャスミン、スギナ、ドクダミ、ハトムギ、ビワの葉、モロヘイヤ、ウド、サフラン、クワ、ラフマ、ベニバナ、トチュウ、スズラン、ゼンマイ等が挙げられる。これらの中でも、柿の葉、ヨモギ、杉の葉、ミント、ヘチマ、シラカバ及びブドウ種子が好ましく、特に柿の葉が好ましい。

【0041】本発明においては、常法に従って得られた20 20 これら植物の抽出物を、そのまま用いてもよいし、精製して用いてもよい。

【0042】本発明のTh2サイトカイン発現抑制剤は、一般式(1)のフラボノイド化合物を必須含有成分として、これを適当な製剤学的に許容される担体と共に用いて、一般的な医薬製剤の形態として実用される。

【0043】上記医薬製剤の投与単位形態としては、各種の形態が治療目的に応じて選択でき、その代表的なものとしては、錠剤、丸剤、顆粒剤、カプセル剤、トローチ剤等の固体製剤；内用散剤、外用散剤、パウダー等の30 粉体製剤；液剤、懸濁剤、乳剤、注射剤(液剤、懸濁剤等)、シロップ剤、ローション剤、エアゾール剤、点眼剤等の液状製剤；軟膏剤等のクリーム状の製剤；バップ剤等が挙げられる。

【0044】本発明のTh2サイトカイン発現抑制剤を利用される上記製剤学的に許容される担体としては、製剤の形態に応じて通常使用される、結合剤、崩壊剤、界面活性剤、吸収促進剤、保湿剤、吸着剤、滑沢剤、充填剤、增量剤、付湿剤等の希釈剤又は賦形剤を例示でき、これらは製剤の投与単位形態に応じて適宜選択して使用される。

40 40 【0045】更に、本発明Th2サイトカイン発現抑制剤には、必要に応じて防腐剤、甘味剤、着色剤、抗酸化剤、保存剤、香料、風味剤等や他の薬剤を配合し、医薬製剤として調製することもできる。

【0046】上記医薬製剤は、当該形態における常法に従って調製することができる。

【0047】上記医薬製剤の投与方法は特に制限がなく、その製剤形態に応じて投与され、例えば、錠剤、丸剤、顆粒剤、カプセル剤、トローチ剤、内用散剤、液剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤等は経口投与され、外用

散剤、パウダー、ローション剤、軟膏剤、バップ剤等は経皮投与される。注射剤は、静脈内に、或いは筋肉内、皮内、皮下又は腹腔内に投与される。エアゾール剤は点鼻薬として投与することができる。

【0048】上記医薬製剤の投与量については、その製剤の形態、患者の年齢、性別その他の条件、疾患の程度等に応じて適宜選択されるが、通常有効成分の量が、1日体重1kg当たり0.025~3mg程度、好ましくは0.05~1.5mg程度とするのがよく、1日に1回又は2~4回に分けて投与することができる。

【0049】一般式(1)で表されるフラボノイド化合物は、Th2サイトカイン(具体的には、IL-4、IL-5及びIL-13)のmRNAの発現を抑制する効果を有しているため、Th2サイトカイン(具体的には、IL-4、IL-5及びIL-13)の産生(生成)を抑制(阻害)することにより、Th2サイトカイン(具体的には、IL-4、IL-5及びIL-13)の発現を抑制することができる。従って、一般式(1)で表されるフラボノイド化合物を有効成分とする医薬製剤は、Th2サイトカイン発現抑制剤、具体的にはIL-4、IL-5及びIL-13発現抑制剤として用いることができる。

【0050】IL-4、IL-5、IL-13はIgE産生や慢性炎症の誘導に関与するので、本発明のTh2サイトカイン発現抑制剤は、これらが関連する種々の症状、具体的にはアレルギー性疾患における、即時型アレルギー反応や慢性アレルギー性炎症(例えば、アレルギー性鼻炎、花粉症、アトピー性皮膚炎等)のコントローラー(調節剤)としての作用が期待できる。

【0051】一般式(1)で表されるフラボノイド化合物を含む植物として上記で例示した植物の抽出物(又は、該抽出物を含有する組成物)を長期間摂取すれば、Th2サイトカイン(具体的にはIL-4、IL-5及びIL-13)の発現を抑制する効果を有する。

【0052】【実施例】本発明を実験例及び処方例により説明する

10 が、本発明の範囲は、これらのみに限定されるものでない。

【0053】実験例1: RT-PCRによるIL-4、IL-5及びIL-13 mRNAの発現

常法に従って、IL-4、IL-5及びIL-13のmRNAの発現量を測定した。

【0054】ヒト好塩基球株化細胞(KU812)を、10%牛胎児血清(56°C、30分処理)を含むRPMI1640培地(ギブコ)にて37°C、5%CO<sub>2</sub>下で培養した。KU812細胞(5×10<sup>5</sup>cells/ml)を、表1及び表2に示す濃度の各フラボノイド化合物及び1μM A23187イオノフォアで3時間刺激した。洗浄後、総RNAをRNazol(Biotex, USA)により採取した。採取した総RNAのうち、800ngをRT mixture(Rerkin ElmerCetus, USA)で混合し、99°Cで5分間、37°Cで60分間インキュベートした。各RT産物が得られた後、PCR増幅をIL-4、IL-5及びIL-13特異的プライマーとβアクチン特異的プライマーを用いて行った。生成物を2%アガロースゲルで泳動後、エチジウムプロマイドで染色し、写真撮影後、デンシトメーターで測定し、発現量を-、-、+、++又は+++で評価した。結果を下記の表1及び表2に示す。

【0055】

【表1】

フラボノイド化合物	IL-4mRNA 発現量	βアクチン
コントロール (0 μM)	+++	+++
フィセチン (30 μM)	-	+++
ケンフェロール (30 μM)	+	+++
ミリセチン (30 μM)	++	+++
ケルセチン (30 μM)	+	+++
ルチン (30 μM)	++	+++
アピゲニン (30 μM)	+	+++
ルテオリン (30 μM)	-	+++

【0056】

※ ※【表2】

化合物	フラボノイド	IL-4 mRNA	IL-5 mRNA	IL-13 mRNA	βアクチン
	発現量	発現量	発現量	発現量	
コントロール (0 μM)	+++	+++	+	+++	
フィセチン (3 μM)	++	++	±	+++	
フィセチン (30 μM)	-	±	-	+++	

【0057】表1及び表2における発現量は、下記の基準により示される。

+++：非常に多い、++：多い、+：少ない、±：非常に少ない、-：なし

表1に示す各フラボノイド化合物を好塩基球細胞に投与することにより、好塩基球細胞のIL-4のmRNAの発現抑制効果が認められた。特に、フィセチン、ケンフェロール、ケルセチン、アピゲニン及びルテオリンには顕著な抑制効果が認められた。フィセチンには、IL-4、IL-5及びIL-13の発現抑制が認められた。

【0058】以下に、本発明インターロイキン発現抑制剤の処方例示す。これらは、その形態における常法に従って製造できる。

#### 【0059】

処方例1：チュアブル錠	(mg)
フィセチン	5
キシリトール	300
アスパルテーム	4
ステアリン酸マグネシウム	10
香料	1
処方例2：軟膏	(g)
アピゲニン	0.5
ポリエチレングリコール400	49.5
ポリエチレングリコール4000	49.8

\*アクリノール粉末

0.2

#### 【0060】

【発明の効果】一般式(1)、具体的には一般式(2)、一般式(3)又は一般式(4)で表されるフラボノイド化合物は、好塩基球細胞又は肥満細胞のIL-4、IL-5及びIL-13のmRNAの発現抑制効果を有しており、IL-4、IL-5及びIL-13の発現抑制作用を有している。従って、一般式(1)のフラボノイド化合物を含有する医薬組成物は、Th2サイトカイン、具体的にはIL-4、IL-5及びIL-13発現抑制剤として使用することができる。IL-4、IL-5、IL-13等のTh2サイトカインは、IgE産生や慢性炎症の誘導に関与する。従って、本発明のTh2サイトカイン発現抑制剤は、アレルギー性疾患における、即時型アレルギー反応や慢性アレルギー性炎症(例えば、アレルギー性鼻炎、花粉症、アトピー性皮膚炎等)のコントローラー(調節剤)としての作用が期待できる。或いは、一般式(1)で表されるフラボノイド化合物を含有する植物抽出物(又は該抽出物を含有する組成物)を、IL-4、IL-5及びIL-13の発現抑制に基づくIgE産生抑制などによるアレルギー(例えば、アレルギー性鼻炎、花粉症、アトピー性皮膚炎)の予防、肌荒れの予防乃至改善、かゆみの改善等を目的として長期間に渡り摂取することができる。

#### フロントページの続き

(51) Int. Cl. 7

A 61 P 43/00  
// A 61 K 35/78

識別記号

111

F I

A 61 P 43/00  
A 61 K 35/78

テーマト(参考)

111  
C

Fターム(参考) 4C086 AA01 AA02 BA08 EA11 GA17  
MA01 MA04 NA14 ZA33 ZA34  
ZA89 ZB13 ZC41  
4C088 AB03 AB12 AB17 AB18 AB19  
AB20 AB24 AB25 AB26 AB29  
AB34 AB38 AB47 AB48 AB51  
AB52 AB56 AB64 AB72 AB76  
AB77 AB85 AC04 AC05 BA14  
NA14 ZA33 ZA34 ZA89 ZB13